



TITLE:

THE DENATURATION OF PROTEIN UNDER HIGH PRESSURE(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Suzuki, Chieko

CITATION:

Suzuki, Chieko. THE DENATURATION OF PROTEIN UNDER HIGH PRESSURE. 京都大学, 1964, 理学博士

ISSUE DATE:

1964-03-23

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/211254>

RIGHT:

【 26 】

氏 名	鈴 木 智 恵 子 すず き ち え こ
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 76 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 39 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	THE DENATURATION OF PROTEIN UNDER HIGH PRESSURE (高圧下における蛋白質の変性の研究)
論 文 調 査 委 員	(主 査) 教授 大杉治郎 教授 田中正三 教授 後藤良造 教授 後藤廉平

論 文 内 容 の 要 旨

主論文第一部 タンパク質が生体にあるときの状態またはそれを注意深く取り出したときの特定の構造(生状態)が、環境変化によって変化または破壊するために、種々の性質の変化をもたらす。これをタンパク質の変性といい、熱変性・尿素変性などについては多くの研究がなされているが、高圧力による変性についてはほとんど研究されていなかった。

著者は等電点以外の pH の卵アルブミン溶液の加圧変性を沈澱法によってしらべ、数千気圧以上の圧力によって変性し等電点に pH をもどすことによって沈澱を生ずるが、血清アルブミンの等電溶液は10,000気圧まで加圧しても全く沈澱を生じないことを見出している。また、等電溶液の加熱によるタンパクの沈澱に及ぼす圧力の効果を調べ、卵アルブミンは低い圧力によって抑制されるが、高い圧力では圧変性がおこるためにその抑制効果は打消され、3,000気圧付近が最大であることを明らかにした。一方血清アルブミンは8,000気圧まで圧力とともに抑制効果が増大し、8,000気圧ではほとんど完全に沈澱を生じなくなる。このことから血清アルブミンは加圧によっては沈澱は生じないと考えられる。しかし、血清アルブミン溶液(pH 6.8)に酸化剤(赤血塩)を添加して加圧すると、タンパクの SH 基の酸化が除圧後にも認められるが、あらかじめ加圧した血清アルブミン溶液に酸化剤を加えても SH 基の酸化はみられない。これに対して卵アルブミン溶液はいずれの場合にも SH 基の酸化がおこることを明らかにしている。これらの実験は卵アルブミンの変性は再生され難いが、血清アルブミンの変性は容易に再生されるというよく知られた性質が、圧力による変性の場合にも成立することを立証したといえることができる。このように血清アルブミンは確かに加圧中には変性していることは示されているが、変性のもっとも顕著な性質としての沈澱現象は加圧下ではたして起こっているかどうかが問題になる。これらの点を明らかにするために、加圧下で直接に溶解度の変化を測定することの可能な光学窓をもった加圧装置を製作し、著者は卵アルブミンおよび血清アルブミン水溶液の高圧による濁り度の変化の測定を行なっている。まず、もっとも溶解度が変性によって変化しやすい等電点溶液について測定を行ない、卵アルブミンは4,000気圧以上で濁り度が

急に増加するが、除圧すると除圧前の圧力での濁り度のままにとどまるか、またはむしろ濁り度が増加する傾向にあることを見出し、血清アルブミンでは同様に 4,000 気圧以上の圧力で急激に濁り度が増加するが、除圧とともに完全に回復することを明らかにした。

また緩衝液を含む溶液および pH を塩酸または水酸化ナトリウム溶液で調整して塩を含みぬ溶液について高圧下における濁り度の測定を行なっている。その結果卵アルブミンは pH4.8 においては塩の存在にほとんど無関係に濁り度は変化し、pH 6.8 では塩が存在しないときには濁り度は圧力によって変化しないが、塩が存在すると濁り度は増加する。しかし、いずれの場合においても、卵アルブミンの濁り度は除圧によってもとにもどらない。一方血清アルブミンは塩が存在する場合には、pH 4.8 および 6.8 においては高圧下で濁り度は増加するが、除圧によって完全に回復する。塩が存在しないときには、ほとんど濁り度に変化がみられないことを明らかにしている。

さらに、高圧によって濁り度を増加させ、除圧によって完全に回復させた血清アルブミン溶液が濁り度以外の性質について完全に生状態に回復しているかどうかをしらべるために、旋光度・消化度・紫外線吸収および 10% 硫酸ナトリウム溶液中での溶解度を測定している。その結果、旋光度および紫外線吸収の点では生状態のものと同じであるが、消化度および硫酸ナトリウム液液中での溶解度に関しては変性は完全に回復していないことを明らかにした。この結果は透析による尿素変性からの再生について行なった Neurath らの実験と類似しているが、尿素変性では尿素存在中ではタンパク質は完全に溶解しているのに対して著者の実験では高圧下で沈澱を生じているという点において差異があることを明らかにしている。また、塩が存在する血清アルブミン等電溶液は加熱されると沈澱が生じ、冷却後も沈澱は残るが、高圧によっては沈澱が生じて、除圧とともに完全に再溶解するという点で熱変性とも差異があることを示している。また、タンパク質の再生研究における非常にゆっくりした過程によって再生するという議論に対し、著者の実験では数千気圧の高圧から急激に常圧にもどすという激しい環境変化を行なうことによって、血清アルブミンの圧変性がよく再生されるという点で興味ある事実を明らかにしている。

主論文第二部 セラチンおよびフィブリンのゲル化については非常に多くの研究がなされているが、球状タンパクのゲル化についてはごくわずかに研究されているにすぎない。

加圧変性によるゲル化は Bridgman による卵の白味の凝固が報告されて以後あまり研究されていない。著者は卵アルブミン水溶液の圧変性によるゲル化および熱変性によるゲル化をゲル化に要する最小タンパク濃度を測定することにより研究している。ゲル化におよぼす pH、塩の添加・SH および SS 基試薬の添加・および温度効果を測定し、Kauzmann らの研究した尿素溶液のゲル化と大体類似した結果を得ている。しかし、尿素変性によるゲル化は常に無色透明なゲルをうるが、圧変性においては常に白濁ゲルを得、また、熱変性では両者の中間のゲルを得ている。また、ゲル化の最適 pH が尿素変性の場合は 9 であり、圧変性の場合には等電点付近であり、さらに、熱変性の場合には 7 の近傍であること、および圧変性で得られたゲルはアルカリ溶液に非常に容易に溶解するが、熱変性ではかなり時間を要するか、あるいはほとんど溶解しないことを見出している。これらの結果から、圧力によるゲルでは、尿素溶液のゲルと異なり、SH、SS 交換反応による分子間 SS 結合によるよりも、むしろ分子間水素結合または van der Waals 力などの弱い結合による網目構造が形成されやすいのであろうと結論している。

参考論文要旨 その1~5は主論文の結果を得る前提となった研究であって、卵アルブミン・血清アルブミンについての加圧変性に関し種々な実験方法による吟味を行なっている。

その6~8は統計力学の基礎および鎖状高分子についての研究である。

論文審査の結果の要旨

著者の主論文はタンパク質の生状態が環境の変化によって、その構造が破壊または変化して性質の変化をおこす変性現象を高圧下で研究したものである。第一部では変性の可逆性が論じられている。著者は血清アルブミンの等電溶液について卵アルブミンと同様に加圧操作後の試料について沈澱法による研究を行なおうとしたが、10,000気圧までの加圧によっては沈澱が得られないことを見出し、加圧中の変化を観測することが必要になり、変性反応の可逆性が問題になったのである。そこで高圧下で濁り度の測定可能な光学窓をもった装置を用いて卵アルブミンおよび血清アルブミン水溶液について濁り度の測定を行なっている。その結果、卵アルブミンは沈澱を生じやすくその沈澱は除圧してもそのままとどまるが、血清アルブミンは加圧によって沈澱を生じても除圧とともに再溶解する可逆性沈澱が生じることを明らかにしている。血清アルブミンの沈澱の生成および再溶解は塩濃度に強く依存しており、完全に塩のない溶液では沈澱が生じやすく再溶解も完全でなく、塩の存在ではほとんど完全に再溶解することを明らかにしている。再溶解した溶液では、旋光度・紫外線吸収については生状態におけると同じであるが、硫酸ナトリウム濃厚液への溶解度および酵素による消化度については生状態に完全には回復していないことが示されている。

この変性の再生に関し、尿素変性および熱変性と比較吟味し、圧力による変性の特性を明らかにし、変性の可逆性に関して貴重な知見を加えている。

第二部においては、球状タンパク質が変性されることによるゲル化について論じている。著者は圧力および熱によるゲル化を卵アルブミンについて、ゲル化の可能な最小濃度を測定することにより研究し、尿素溶液のゲル化と比較し、生成したゲル状態の差異ならびに最適 pH の差異を明らかにしている。さらに、熱によるゲル化とも比較し、圧力によるゲル状態の溶解性などの特性を明らかにしている。その結果、圧力によるゲルでは尿素溶液のゲルと異なり、SH、SS 交換反応による分子間 S—S 結合によるよりもむしろ分子間水素結合、または van der Waals 力などの弱い結合による網目構造が形成されやすいことを推論している。

参考論文8編中5編は主論文の前提となる研究であって、他の3編は著者の充実した学識を示す研究である。

要するに、著者鈴木智恵子はタンパク質の圧力による変性という未開拓の分野の基礎的研究を行ない、貴重な知見を加え研究の発展に寄与貢献するところが少なくない。また、主論文、参考論文を通じ、著者はすぐれた研究能力をもっていることを認めることができる。

よって本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。